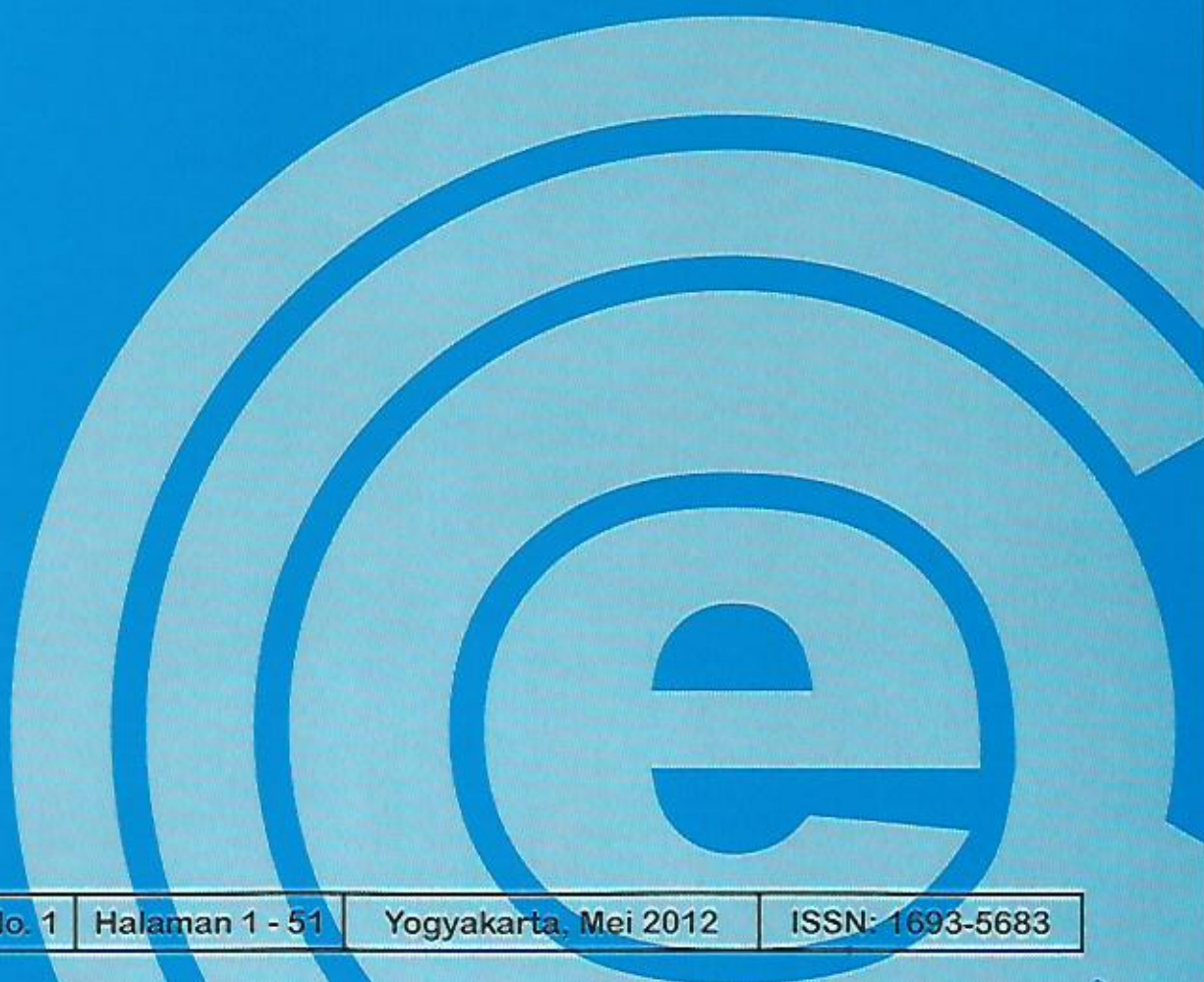


# JURNAL FARMASI SAINS DAN KOMUNITAS

Journal of Pharmaceutical Sciences & Community

---



# DAFTAR ISI

Vol. 9 No.1

Mei 2012

<b>Kajian Pemahaman Dan Ketaatan Penggunaan Obat pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan Komplikasi Dislipidemia Di Rumah Sakit X Yogyakarta Periode Desember 2010 - Januari 2011</b> Novreny, Yunita Linawati .....	1-5
<b>Pengaruh Proses Pencampuran dalam Formulasi Sediaan Emulgel Ekstrak Teh Hijau (Kajian dari aspek Suhu dan Kecepatan Pencampuran)</b> Agatha Budi Susiana Lestari .....	6-11
<b>Formulasi Tablet Hisap Ekstrak Daun Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>)</b> Lannie Hadisoewignyo, Gusti Ayu Made Ratih, Sanela .....	12-19
<b>Evaluasi Kesesuaian Pemilihan Antibiotika pada Pasien Infeksi Saluran Kemih Berdasarkan Hasil Kultur dan Tes Sensitivitas Di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit “X” di Yogyakarta Tahun 2011</b> Alfiari Novita Dhian Andityas, Fenty .....	20-25
<b>Efek Antiinflamasi Benzoil Eugenol secara Topikal terhadap Edema Kaki yang Diinduksi Formalin 0,5% pada Mencit Jantan Galur Swiss</b> Paulina Maya Octasari , Ipang Djunarko .....	26-35
<b>Uji Aktivitas Antioksidan Buah Markisa Ungu (<i>Passiflora edulis</i> f. <i>edulis</i> Sims.) Dan Buah Markisa Kuning (<i>P. edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Deg.) Menggunakan Metode DPPH</b> Meiske Munda, Yohanes Dwiarmaka .....	36-42
<b>Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Selasih (<i>Ocimum sanctum</i> L.)</b> Yosafat Rubbyanto Widodo, C.J.Soegihardjo .....	43-51

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BUAH MARKISA UNGU  
(*Passiflora edulis f. edulis* Sims.) DAN BUAH MARKISA KUNING  
(*P. edulis* Sims. *flavicarpa* Deg.) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

MEISKE MUNDA, YOHANES DWIATMAKA

Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

**Abstract:** Antioxidants are compounds with their ability to inhibit free radical reactions. There are many natural antioxidant sources. According to some researches, passion fruit contains a high level of vitamin C, flavonoids and carotenoids. These compounds are wellknown as antioxidant, so passion fruit expected has antioxidant activity. There are several forma of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) in Indonesia. Violet passion fruit (*P. edulis f. edulis* Sims.) and yellow passion fruit (*P. edulis* Sims. *flavicarpa* Deg.) are the most popular forma and cultivated. The difference of forma may have different antioxidant activity. This research was conducted to determine the antioxidant activity of violet passion fruit and the yellow passion fruit using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. The result showed that both of passion fruit forma have weak antioxidant activity ( $IC_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$ ). The  $IC_{50}$  of violet passion fruit is  $2.74 \pm 0.39 \text{ mg/mL}$  and  $5.26 \pm 1.57 \text{ mg/mL}$  for the yellow passion fruit.

**Keywords:** Antioxidant, DPPH, violet passion fruit, yellow passion fruit

## PENDAHULUAN

Perubahan kondisi lingkungan dan pola hidup masyarakat, terutama pola makan dan kebiasaan menjadikan tubuh lebih rentan terkena berbagai jenis penyakit, khususnya yang dipicu oleh radikal bebas. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan. Radikal bebas bersifat sangat reaktif, sehingga untuk menstabilkan dirinya molekul ini akan melakukan serangkaian reaksi oksidasi patogenik terhadap sel atau komponen sel seperti nukleotida, membran sel, lemak dan protein, sehingga sel akan mengalami disfungsi atau mutasi yang akhirnya berakibat pada timbulnya berbagai jenis penyakit degeneratif (Hernani dan Rahardjo, 2005).

Aktivitas radikal bebas dapat ditekan bahkan dihentikan dengan suatu antioksidan. Menurut Pokorny, Yanishlieva and Gordon (2001) antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas.

Senyawa antioksidan memegang peranan penting dalam pertahanan tubuh terhadap pengaruh buruk yang disebabkan radikal bebas.

Berbagai bahan tanaman diketahui memiliki kandungan senyawa antioksidan. Buah markisa asam diduga memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki kandungan seperti tersebut pada Tabel I. Menurut Cos *et al.* (2001) aktivitas antioksidan bahan alami antara lain disebabkan karena adanya kandungan seperti vitamin C, vitamin E, betakaroten, dan beberapa senyawa polifenol lain. Ada dua macam forma markisa asam yang saat ini mulai dibudidayakan di Indonesia yang merupakan bahan baku utama industri pengolahan sirup markisa, yaitu markisa ungu dan markisa kuning.

Kedua macam buah markisa tersebut memiliki rasa yang tidak jauh berbeda, namun karena berbeda "forma" memungkinkan komposisi zat antara markisa ungu dan markisa kuning juga berbeda dan dapat mempengaruhi khasiatnya. Seperti yang disampaikan



Karsinah, Silalahi dan Mansur (2007), terdapat perbedaan komposisi kimiawi yang terkandung pada markisa ungu dan markisa kuning (Tabel I).

Tabel I. Komposisi kimiawi buah markisa ungu dan markisa kuning

Kandungan senyawa	Markisa ungu	Markisa kuning
Karotenoid	1,16 %	0,058 %
Flavonoid	1,06%	1%
Alkaloid	0,012%	0,7%
Vitamin C	88 mg/100g	75,09mg/100g

Aktivitas antioksidan sari buah markisa dapat diukur secara spektrofotometri menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Vitamin C biasa digunakan sebagai kontrol positif untuk membandingkan aktivitas antioksidan suatu bahan. Menurut Kwok (2003) metode DPPH ini dianggap akurat dalam mengukur aktivitas antioksidan pada buah dan ekstrak sayur. Hanani, Mun'im, dan Sekarini (2005) menyatakan metode ini relatif sederhana. Prinsip metode ini didasarkan pada kemampuan suatu antioksidan untuk mengurangi intensitas warna ungu radikal DPPH. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$  yang menggambarkan jumlah antioksidan yang dapat mengikat 50 % jumlah radikal bebas.

Buah markisa ungu maupun kuning banyak digunakan sebagai bahan pembuat sirup yang memiliki aktivitas antioksidan. Kedua macam buah markisa tersebut memiliki perbedaan kandungan komposisi kimiawi, maka penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan kedua macam buah markisa tersebut.

## BAHAN DAN METODOLOGI

Bahan uji berupa buah markisa ungu (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims.) diperoleh dari Perkebunan markisa, Tanah Toraja, Sulawesi Selatan dan buah markisa kuning (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) diperoleh dari kebun markisa organik Bapak Supardi di Desa Bener, Tegalrejo (umur buah

85 dan 95 hari setelah bunga mekar), Yogyakarta; *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) Sigma Chem. Co., USA; metanol (Merck); vitamin C (Merck).

Alat yang digunakan antara lain Spektrofotometer UV-Vis Optima SP-3000; neraca SBC 22 (Scaltec); mikropipet 50 dihindarkan menggunakan *blender* dengan penambahan akuades. Sari buah yang diperoleh kemudian disaring diambil sebanyak 0,5 ml dan diencerkan dengan metanol dalam labu ukur 10,0 mL. Sari yang telah diencerkan kemudian digojog selama 1 menit dan didiamkan selama 30 menit hingga terbentuk endapan. Sebanyak 600, 700, 800, 900, dan 1000  $\mu$ L supernatan diambil dan diencerkan dengan metanol hingga 5,0 mL, sehingga diperoleh seri konsentrasi larutan uji sari buah markisa.

Larutan kontrol dibuat dengan metanol sebanyak 3,05 mL yang dimasukkan ke dalam *vial* lalu ditambah 0,95 mL larutan DPPH 57,62  $\mu$ M dan digojog selama 1 menit. Setelah itu larutan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

Larutan DPPH dibuat dengan menimbang 22,4 mg DPPH, dilarutkan dalam metanol di dalam labu ukur 250,0 mL. Diperoleh larutan DPPH konsentrasi 0,228 mM. Larutan ditutup aluminium foil dan selalu dibuat baru.

Pembandingan vitamin C 1 mM dibuat dalam akuades, kemudian dibuat seri konsentrasi 7,044; 7,925; 8,805; 9,86; dan 10,566  $\mu$ g/mL. Larutan selalu dibuat baru.

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada rentang panjang gelombang 400-600 nm.

Validasi metode uji aktivitas antioksidan dari sampel meliputi akurasi (%*recovery*), presisi (%*CV*), spesifisitas (spektra kontrol), dan linearitas (nilai *r*).

$$\%Recovery = \frac{\text{konsentrasi terukur}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(6)$$

$$\%CV = \frac{\text{StandarDeviasi(SD)konstrasiterukur}}{\text{rata-ratakonstrasiterukur}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(7)$$

Data absorbansi sampel dan senyawa kontrol digunakan untuk menghitung nilai  $%IC$  dan  $IC_{50}$ , dengan menggunakan persamaan garis regresi linear antara konsentrasi sari buah markisa ungu atau sari buah markisa kuning (sumbu X) dengan  $%$  inhibisi (sumbu Y). Terhadap nilai  $IC_{50}$  kedua sari buah markisa dibandingkan dengan uji T (*T-test* tidak berpasangan).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

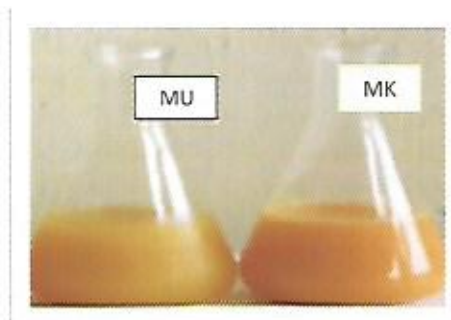
Buah markisa yang digunakan dalam penelitian ini dipanen pada umur 85 sampai 95 hari setelah bunga mekar. Pada usia ini buah sudah cukup masak. Kriteria buah markisa ungu yang siap dipanen adalah kulit buah berwarna ungu hingga ungu kehitaman. Buah dipilih yang memiliki diameter 5-6 cm. Untuk buah markisa kuning yang dipanen mempunyai warna kulit buah kuning dengan diameter buah 5-7 cm. Kedua macam buah merkisa tersebut memang memiliki perbedaan ukuran ketika masak. Buah yang dipergunakan dipilih pada kondisi masak pohon, sesuai dengan yang digunakan dalam pembuatan sirup markisa.

Dalam penelitian ini bahan uji berupa sari buah, sebagaimana pemanfaatannya oleh masyarakat. Sampel yang digunakan dalam preparasi merupakan buah segar untuk menjaga kestabilan kandungan kimia dalam buah dan dihancurkan dengan *blender* untuk memperoleh sari buah markisa.

Sari yang buah markisa ungu mempunyai warna lebih orange dibandingkan dengan sari markisa kuning (Gambar. 1). Sari buah markisa ungu yang diperoleh lebih sedikit dibandingkan sari buah markisa kuning (Tabel II). Karsinah dkk. (2007) menyampaikan hal tersebut dapat disebabkan karena kandungan total bahan padat terlarut ( $TSS = Total\ Soluble\ Solid$ ) pada markisa kuning lebih banyak dibandingkan pada markisa ungu.

Pada proses pembuatan larutan induk sampel uji, dilakukan pengenceran sari buah markisa dengan penambahan metanol. Metanol di samping dapat melarutkan

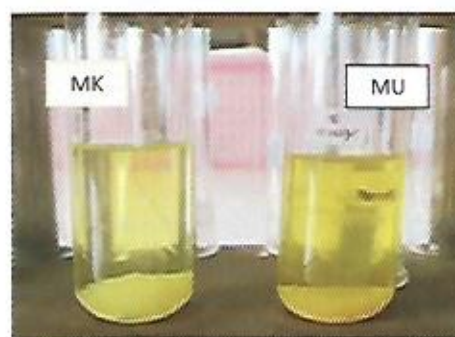
sebagian senyawa yang diduga sebagai antioksidan, juga untuk mengendapkan pengotor berupa pektin, protein, amilum dan mungkin sisa dinding sel. Setelah terjadi pengendapan maka dapat diperoleh supernatan berupa cairan bening berwarna kekuningan, sedangkan endapan berwarna keruh keputihan (Gambar. 2). Cairan bening bebas partikel menjadi syarat pengujian dengan spektrofotometer visibel. Senyawa-senyawa yang diperkirakan memiliki efek antioksidan terlarut dalam metanol-air.



Gambar 1. Perbedaan warna sari buah markisa ungu (MU) dan sari buah markisa kuning (MK)

Tabel II. Volume sari buah markisa ungu dan sari buah markisa kuning  
Keterangan: I-V = replikasi

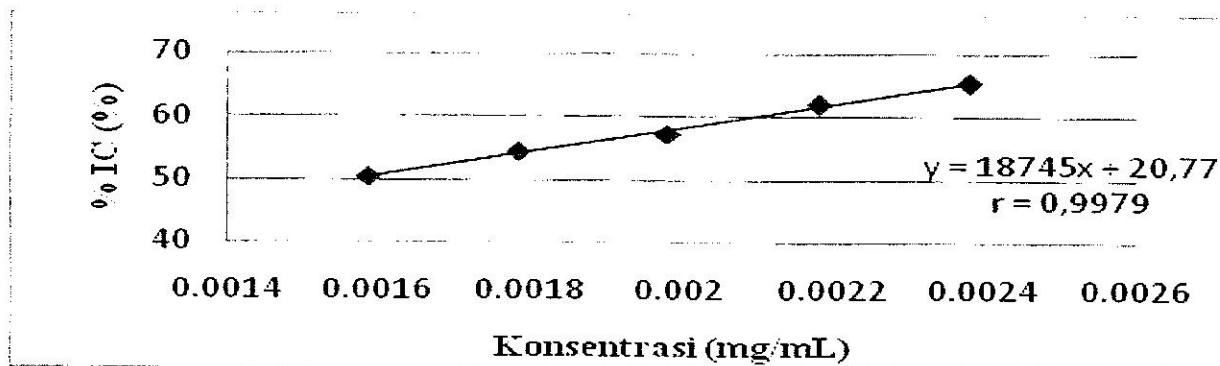
Jenis markisa	Volume sari buah markisa (mL) dari 50 g isi buah					Re-rata
	I	II	III	IV	V	
Markisa Ungu	64,6	65,0	63,4	66,0	62,1	64,22
Markisa Kuning	72,3	74,5	70,6	73,0	73,4	72,76



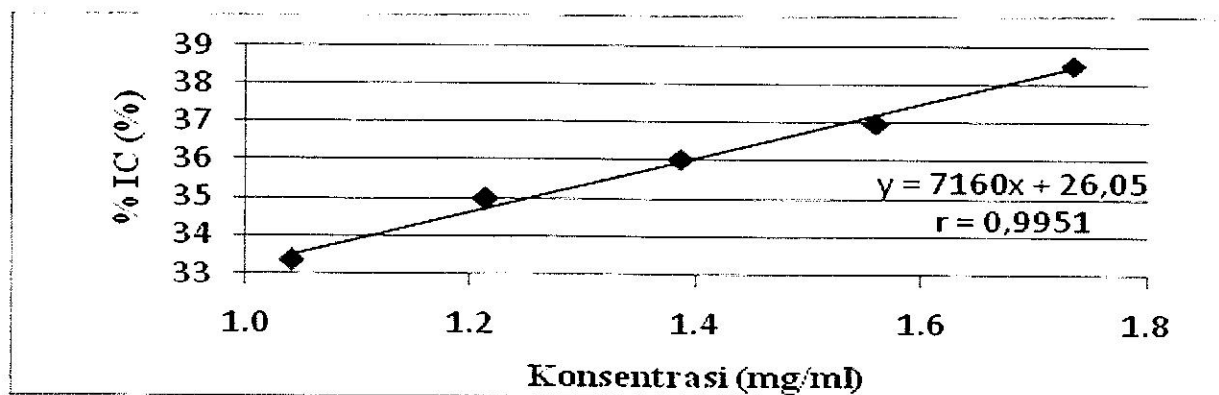
Gambar 2. Pengendapan pektin, protein, amilum, dan sisa dinding sel

Metode DPPH yang digunakan dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan besar aktivitas antioksidan antara sari buah markisa ungu dan sari buah markisa kuning. Dalam metode ini, aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung rasio penurunan absorbansi radikal DPPH pada senyawa uji yang diduga mempunyai aktivitas antioksidan dibandingkan dengan absorbansi kontrol yang tidak diberi senyawa uji. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Molyneux (2004). Pada metode DPPH yang diukur adalah absorbansi pada panjang

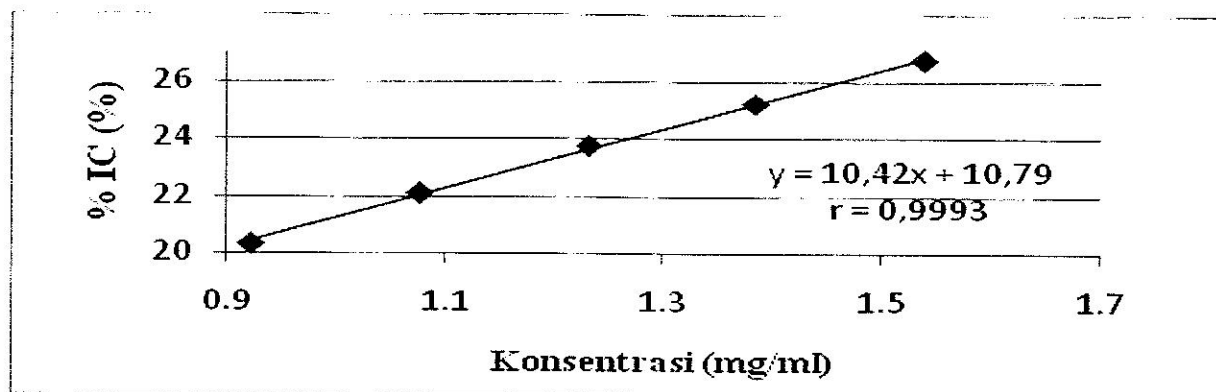
gelombang 515 nm larutan DPPH yang tidak bereaksi dengan senyawa antioksidan. Maka perlu dilakukan *scanning* serapan larutan sampel dan pelarut pada rentang  $\lambda$  400-600 nm untuk meyakinkan tidak adanya gangguan terhadap serapan DPPH. Hasil pengukuran menunjukkan tidak ada serapan pada rentang panjang gelombang tersebut, sehingga dapat diyakinkan bahwa nilai serapan yang diperoleh hanya berasal dari sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan senyawa antioksidan.



Gambar 3. Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan vitamin C



Gambar 4. Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan sari buah markisa ungu



Gambar 5. Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan sari buah markisa kuning



Menurut kriteria dari APVMA (2004), persyaratan linearitas yang baik adalah nilai  $r \geq 0,99$ . Pada Gambar 3, 4, dan 5 terlihat bahwa, korelasi antara konsentrasi vitamin C maupun larutan uji sari buah markisa dengan %IC ketiganya  $> 0,99$  sehingga ketiganya dinyatakan baik. Artinya dapat diyakini bahwa hubungan kenaikan konsentrasi sampel dengan kenaikan nilai %IC adalah linier dan dapat digunakan untuk penetapan nilai  $IC_{50}$ .

Penetapan parameter akurasi digunakan untuk menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Penilaian akurasi didasarkan pada nilai perolehan kembali (%*recovery*) hubungan antara seri konsentrasi vitamin C, larutan uji sari buah markisa ungu dan larutan uji sari buah markisa kuning dengan aktivitas antioksidan yang diperoleh. Harmita (2004) menyampaikan persyaratan akurasi (%*recovery*) yang masih diperbolehkan untuk berbagai rentang konsentrasi analit (Tabel III).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa %*recovery* vitamin C berada dalam rentang 91,15%-100,96%, larutan uji sari markisa ungu berada dalam rentang 93,98%-103,60%, sedangkan untuk larutan uji sari buah markisa kuning berada dalam rentang 91,65%-104,36%. Rentang %*recovery* yang baik untuk vitamin C dengan kadar sekitar 10 ppm berkisar antara 90%-107% sehingga dapat dikatakan bahwa persyaratan %*recovery* untuk vitamin C terpenuhi. Persyaratan %*recovery* yang baik untuk larutan uji sari buah markisa ungu dan markisa kuning dengan kadar antara 100 ppm-1000 ppm adalah 90%-105% sehingga dapat dikatakan bahwa persyaratan %*recovery* untuk larutan uji sari buah markisa ungu dan sari buah markisa kuning terpenuhi.

Penetapan parameter presisi dilakukan untuk menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual yang diperoleh dari pengambilan sampel berulang yang telah dihomogenkan dengan suatu metode analisis (Snyder, Kirkland and Glajch, 1997). Presisi

umumnya dinyatakan dengan nilai koefisien variasi (%*KV*) atau standar deviasi. Dari proses penelitian ini diperoleh %*KV* vitamin C berada dalam rentang 1,3%-4,6%, larutan uji sari buah markisa ungu berada dalam rentang 1,2%-4,8%, dan untuk larutan uji sari buah markisa kuning berada dalam rentang 2,1%-4,9%. Menurut Harmita (2004) persyaratan % *KV* yang baik untuk kadar sekitar 10 ppm harus  $\leq 5\%$  dan untuk, sehingga dapat dikatakan persyaratan %*CV* untuk vitamin C terpenuhi. Persyaratan rentang %*KV* yang baik untuk bahan alam adalah  $\leq 15\%$  sehingga %*CV* untuk sari buah markisa ungu dan sari buah markisa kuning juga memenuhi persyaratan.

Aktivitas antioksidan yang diperoleh melalui metode DPPH dinyatakan dengan  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan persen penangkapan radikal (%*IC*). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$ , maka semakin besar aktivitas antioksidan senyawa uji tersebut.

Tabel III. Rentang akurasi (%*recovery*) yang masih dapat diterima

Analit dalam matrik sampel (%)	Rata-rata yang diperoleh (%)
100	98-102
$> 10$	98-102
1	97-103
$> 0,1$	95-105
0,01	90-107
0,001	90-107
0,000.1 (1 ppm)	80-110
0,000.01 (100 ppb)	80-110

(Harmita, 2004)

Tabel IV. Nilai  $IC_{50}$  vitamin C, buah markisa ungu, buah markisa kuning

Bahan Uji	Rata-rata $IC_{50} \pm SD$ (mg/mL)
Vitamin C	$1,64 \times 10^{-3} \pm 1,3 \times 10^{-4}$
Sari markisa ungu	$2,74 \pm 0,39$
Sari markisa kuning	$5,26 \pm 1,57$

Hasil  $IC_{50}$  yang diperoleh untuk buah markisa ungu dan markisa kuning ternyata tidak masuk dalam rentang kurva persamaan regresi linear yang dihasilkan, maka aktivitas antioksidan buah markisa ungu dan buah markisa kuning tersebut sebenarnya merupakan suatu nilai pendekatan secara ekstrapolasi. Berdasarkan hasil tersebut, maka masih dimungkinkan untuk dilakukan penyempurnaan berupa modifikasi pada rentang konsentrasi sari buah markisa ungu dan sari buah markisa kuning agar diperoleh nilai  $IC_{50}$  yang masuk dalam range kurva persamaan regresi linear yang dibuat.

Melalui uji *T-test* ternyata nilai  $IC_{50}$  buah markisa ungu berbeda bermakna dibandingkan nilai  $IC_{50}$  buah markisa kuning ( $p\text{-value} = 0,008$ ). Nilai  $IC_{50}$  buah markisa ungu lebih kecil daripada markisa kuning (Tabel IV). Itu juga berarti bahwa aktivitas antioksidan buah markisa ungu nyata lebih besar daripada buah markisa kuning. Kenyataan ini didukung oleh kandungan kimianya (Tabel I). Pada Tabel I tampak bahwa buah markisa ungu mengandung jumlah senyawa yang dikenal sebagai antioksidan (karotenoid, flavonoid, dan vitamin C) lebih banyak daripada dalam buah markisa kuning.

Berdasarkan dari penggolongan kekuatan aktivitas antioksidan menurut Ariyanto *cit* Nusarini, (2007) maka vitamin C ( $IC_{50} = 1,64 \times 10^{-3}$  mg/mL) termasuk antioksidan yang sangat kuat karena nilai  $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ . Buah markisa ungu ( $IC_{50} = 2,74$  mg/mL) dan buah markisa kuning ( $IC_{50} = 5,26$  mg/mL) keduanya tergolong sebagai antioksidan lemah karena  $IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$ . Besarnya nilai  $IC_{50}$  kedua buah ini diperhitungkan sebagai berat buah, bukan berat sari buahnya, maka memberikan hasil nilai  $IC_{50}$  yang tinggi. Pada penelitian berikutnya dapat dilakukan pembuatan sari kering buah markisa menggunakan teknik *freeze drying* agar tidak merusak senyawa aktif antioksidannya, juga nilai  $IC_{50}$  akan menjadi lebih rendah.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sari buah markisa ungu ( $IC_{50} = 2,74 \pm 0,39$  mg/mL) mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan sari buah markisa kuning ( $IC_{50} = 5,26 \pm 1,57$  mg/mL).

### B. Saran

1. Perlu dilakukan modifikasi konsentrasi sari markisa ungu dan sari markisa kuning agar diperoleh nilai  $IC_{50}$  (%) yang masuk dalam rentang kurva persamaan regresi.
2. Perlu dicoba dibuat sari kering buah markisa melalui teknik *freeze drying*.

## DAFTAR PUSTAKA

- APVMA, 2004, *Guidelines For The Validation Of Analytical Methods For Active Constituent, Agricultural And Veterinary Chemical Products*, Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority, Australia, pp 4.
- Cos, P., Calomme, M., Sindambiwe, J.B., de Bruyne, T., Cimanga, K., Pieters, L., Vlietinck, A.J., and Vanden Berghe, D., 2001, Cytotoxicity and Lipid Peroxidation Inhibiting Activity of Flavonoids, *Planta Medica*, pp. 515-519.
- Hanani, E., Mun'im, R., Sekarini, 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* SP Dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 2 (3), 127-133.
- Harmita, 2004, *Petunjuk Pelaksanaan Validasi dan Cara Perhitungan*, Departemen FMIPA UI, Depok, pp. 5-13.
- Hernani dan Rahardjo, M., 2005, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, 9, 16-20, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Karsinah, F.H. Silalahi, dan A. Manshur, 2007, Eksplorasi dan Karakterisasi Plasma Nutfah Tanaman Markisa, *J. Hort*, 17(4): 297-306.



- Kwok, B., 2003, Chemical Constituents Comprising The Antioxidant Activity of Fresh and Dehydrated Saskatoon Berries (*Amelanchier alnifolia* Nutt.cv. *Smoky and Thiessen*), *Thesis*, Departement of Food, Nutrition and Health, The University of British Columbia.
- Molyneux, P., 2004, The use of stable free radical *diphenylpicryl-hydrazyl* (DPPH) for estimating antioxsidant activity, *J. Sci. Technol.*, Vol 26 (2), 211-219.
- Nusarini, R., 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanolik Herba Ketul (*Bidens pilosa* L.), *Skripsi*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M., 2001, *Antioxidant in Food, Practical Aplication*, Wood publishing Limite, Cambridge, England, pp. 22-123.
- Snyder, L.R., Kirkland, J.J., and Glajch, J.L., 1997, *Practical HPLC Method Development*, 2<sup>nd</sup> ed., Jhon Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 67-68,6.